

## VITAROVAT

### Nitrifikálás talajbaktériumok nélkül?

FRENYÓ VILMOS

ELTE Növényélettani Tanszék, Budapest

Közfelfogás szerint a magasabbrendű növényekben található nitrát a talajból származik [1, 3, 4, 15] a mineralizáció, illetve a baktériumos nitrifikáció termékeként. Talajtanos, illetve növényfiziológus szakemberek egyaránt kételkedve fogadták szerzőnek 1958-tól hangoztatott észleletét, hogy sok növényben éhezéskor nitrát mutatható ki abban az esetben is, ha a környezetből egyáltalán nem jutottak nitráthoz [5, 6, 8]. A nitrát „endogén” keletkezése elképzelhetetlen, vagy nehezen elképzelhető volt még az utóbbi években is [2].

Az általános érdektelenség, sőt visszautasítás miatt csak 1966-ban kerülhetett sor a korábbi eredmények [7] összefoglaló bemutatására [9]. Közel egy évtized idővesztéssel, amit a kísérletes ellenőrzést mellőző, tehát megalapozatlan kritika okozott, amely még azt sem vette figyelembe, hogy időközben a francia Tudományos Akadémia egyik közleménye szerint nitrátot találtak kizárólag ammónium eredetű nitrogénnel ellátott növényekben [16]. Ez a közlemény sajnos a magyar prioritás kérdését is vitathatóvá tette. Hazai körökben még az 1970-ben társszerzővel ellenőrzött közleményünk [11] sem talált olyan bírálóra, aki legalább egyszerű kvalitatív próbával meggyőződött volna a jelenség létezéséről.

Végre 1976-ban három külföldi szerzőtárs arról tesz említést, hogy intracelluláris nitritet és nitrátot találtak éhező *Ankistrodesmus*-ban [18]. Még jelentősebb támogatást kaptunk Texasból 1981-ben [12]. A szerzők steril körülmények közt nevelt szója csíranövények éhezésekor éppúgy nitrát képződését észlelték, mint magunk is csaknem negyed évszázaddal korábban az éhező *Sinapis* csíranövényekben, illetve az 1966-os közleményünkben szereplő egyéb zárva-termő növényekben, amelyekre hivatkoznak is.

A külföldi igazolás nyomán 1983 novemberében a Magyar Biológiai Társaság Botanikai Szakosztályában újabb és az előzőeknél jobban ellenőrzött steril kísérletek alapján bemutattuk legújabb eredményeinket [10]; minthogy ez végre meggyőzőnek bizonyult és a talajbaktériumok nélküli nitrátképzés teóriáját elfogadták, indokoltnak látszik agrokémiai és talajtani fórum elé is hozni ezt a régen vajdúdó, idevágó kérdést.

### Vizsgálati anyag és módszer

Minthogy a növényi sejtekben endogén módon képződő nitrát a szerves anyagok és a metabolikus energia fogyatkozásával függ össze, ezért a vizsgálatra szolgáló csíranövényeket lehetőleg apró magvakból neveltük, hogy tartalékaik mihamarabb elfogyjanak. Ezt segítette elő a légzést tetemesen fokozó 28–30 °C hőmérséklet is, amit a nyurgulás megelőzésére alkalmas 100 W-os izzólámpák szolgáltatottak. (Nyári hőség idején a természetes szórt fény is megfelelt.)

A legkisebb méretű csíranövények steril Petri-csészékben nevelkedtek (*Nicotiana glauca*), jól kifőzött, nedves szűrőpapíron. A hosszabbra növőket (*Sinapis alba*, *Capsicum annuum*, *Lycopersicon esculentum* stb.) ugyancsak steril viszonyok közepette, nagyobb méretű kémcsövekben nőttek, két-három hétig. A kémiai elemzés előtt néhány órára sötét burkolattal vettük körül az éhező csíranövényeket tartalmazó zárt üvegeszközöket.

A nitrát megjelenését a sziklevél, hipokotil és csíragyökér szöveteiben egyszerű cseppanalízissel vizsgáltuk, a mikrobiológiában használatos kénsavas difenil-ammónium [13]. Az eredményt még a nitrátra specifikus Busch-féle nitron reagens (1,4-diphenyl-3,5-endoanilino-1,2,4-triazolin) ecetsavas oldatával, továbbá az  $\text{FeSO}_4$  kénsavas oldatával is azonosítottuk. Kvantitatív elemzésre nem törekedtünk, mert csak azt kellett egyértelműen megállapítanunk, hogy talajbaktériumok nélkül is képződhet nitrát a növényekben. Az országos szabvány (MSZ 3615-80) előírásait nem kellett, de nem is lehetett volna követnünk a fehér üveglemezen végrehajtott gyors vizsgálatban, melynek során a megcseppentett részt üvegbottal rendszerint szétdörzsöltük.

### Eredmények és megvitatás

Kísérleteinket immár 25 éves tapasztalat alapján a fehér mustár (*Sinapis alba*) csíranövényekkel kezdtük, a lehetőségek határáig elkerülve a kontaminációt. A fertőzöttnek bizonyuló példányokat kirekesztettük a vizsgálatból. Itt csupán a legjobbnak bizonyuló variánsok eredményét közöljük az 1. táblázatban.

I. táblázat

***Sinapis* és *Lycopersicon* csíranövények endogén  $\text{NO}_3^-$ -tartalma 21 napos korban, az előfordulás százalékában**  
(28–30 °C; 5000 lx; sötétítés az utolsó 3 órában)

(1) Szervek	<i>Sinapis</i>		<i>Lycopersicon</i>	
	(2)		(2)	
	100 növényben a $\text{NO}_3^-$ gyakorisága, %		100 növényben a $\text{NO}_3^-$ gyakorisága, %	
	(3) pozitív eset	(4) negatív eset	(3) pozitív eset	(4) negatív eset
a) Sziklevelek	63	37	47	53
b) Hipokotil	85	15	90	10
c) Csíragyökér	4	96	17	83

Az adatok szerint az endogén képződésű nitrát legnagyobb gyakorisággal a hipokotilban jelent meg. Az viszont már kérdéses, vajon a képzése is itt történik-e, vagy pedig a csíranövény más részében, ahonnan csak áthelyeződik. A kémiai analízis során ugyanis megfigyelhető, hogy a tintakék nitrátreakció a hipokotil szállítószövetében feltűnően élénkebb, mint a parenchimában, amelyben végigvonul a beágyazott szállítószövet. Ez inkább az „allochton” származásra utalna, vagyis arra, hogy a nitrát nem ott helyben keletkezett, hanem máshonnan szállítódott a hipokotilba. (Sziklevélből? Gyökérből?) Ezzel szemben az is megfigyelhető, hogy kezdetben a nitrát nem tölti meg egyenletesen a hipokotilban látható szállítószövetet, hanem eleinte szakadozottan jelentkezik, mintha a környező parenchima sejtjei termelnék. Ha a tenyésztés folyamán eltávolítottuk a szikleveleket vagy a csíragyökeret, ez a beavatkozás befolyásolta a nitrát megjelenésének gyakoriságát a hipokotilban [11]. Valószínűleg mind a hipokotil elsődleges kéregsejtjei, mind pedig a sziklevel sejtjei egyaránt képeznek nitrátot az adott körülmények között, vagyis a szerves tartalékok kimerülésének vége felé.

Különös azonban, hogy a csíragyökérben ritkán volt észlelhető a nitrát jelenléte. Úgy véljük, hogy a gyökér nitrátredukáló aktivitása adhat erre magyarázatot; talán a metabolikus energia itt működik legtovább? Talán hosszabb időtartamú kísérlettel ez a kérdés is megválaszolható.

Paradicsom-csíranövények (*Lycopersicum esculentum*) az előbbinél is meggyőzőbb kísérleti eredményeket szolgáltatottak és lényegesen rövidebb idő alatt: két héten belül! Itt is fontos volt a viszonylag magas hőmérséklet (1. táblázat).

A paradicsom csíragyökere valamelyest eltérően viselkedik, mint a fehér mustáré; gyakrabban fordul elő saját képzésű nitrát. Vajon arról van-e szó, hogy a paradicsom csíranövényében a szerves tartalékok hamarabb elfogynak, mint a mustárban? Így a gyökér éhezése is hamarabb érezteti hatását? Kétségtelen, hogy a paradicsom magja könnyebb és kisebb is, mint a mustáré, tehát kevesebb anyagot raktároz.

A paradicsom sziklevelei könnyen zöldülnek, ami zavarja a színreakció megítélését a cseppanalízis alkalmazásakor. Biztosan észlelni csak akkor lehet, ha a színreakció már a reagencsepp pereméig terjedt ki.

Nem volt egyértelmű a paprika (*Capsicum annuum*) viselkedése. Előfordult, hogy kéthetes csíranövénynek nem a hipokotil szárrészében, hanem a csíragyökerében jelentkezett a saját képzésű nitrát. A cseppanalitikai színreakció nem terjedt át a kb. 25 mm hosszúságú hipokotilra, hanem éles határral megakadt a gyökérnyaknál. A sziklevelekből sem diffundált ki számba vehető nitrátmennyiség. Azonban ez az eltérés a paradicsom és a mustár példájától nem volt teljesen következetes a paprika-csíranövénynél.

Bizonytalanság mutatkozott a spenót (*Spinacia oleracea*) esetében is. Várakozás ellenére a csíragyökérben gyakrabban képződött endogén eredetű nitrát, mint a hipokotilban.

Ennél is meglepőbb, hogy az egészen apró *Nicotiana silvestris* csíranövényekéi egyáltalán nem képeztek endogén módon nitrátot, pedig valamennyi kísérleti növényünk közt ennek a magvai tartalmazták a legkevesebb szerves tápanyagot. Az éhezésnek mihamar be kellett volna következnie, de ilyet hetek múlva sem észleltünk.

Az eltérő példákról számszerű adatokat közölni természetesen indokolatlan lenne, de arra figyelmeztetnek, hogy a talajbaktériumok nélküli endogén nitrátképzés, ha nem is ritka, de korántsem általános jelenség, bekövetkezésének feltételei pedig változhatnak a csíranövények fajtája, életkora, egyedi sajátosságai és egyébek szerint.

### Következtetések

Az eredmények birtokában ma már semmiképpen sem lehet kétséges, hogy a kormofitonok sejtjei és enzimrendszere képes a baktériumos nitrifikációval analóg folyamat létrehívására. Ilyen folyamat talajbaktériumok közreműködése nélkül, steril körülmények között is végbemehet, és egyértelműen kimutatható, amennyiben a szükséges feltételek adottak. Ezirányú kutatásainkat legújabban JAGODIN és VERNICSENKO  $^{15}\text{N}$ -izotóppal végzett kísérletei [14] nagymértékben alátámasztották. Steril körülmények között megállapították, hogy a  $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oldatból felvett nitrogén a tesztnövényként szereplő búzában mint  $^{15}\text{NO}_3^-$  jól mérhető mennyiségben jelent meg. Ezen az alapon az idézett szerzők is feltételezik, hogy az ammónium-nitrogén a növény szöveteiben oxidációval nitrát-nitrogénné alakulhat. A magunk részéről csak azt tennők hozzá, hogy itt sem feltételezhető a direkt oxidáció, hanem inkább a  $\text{NAD}^+$  és a  $\text{NADP}^+$  valamilyen közreműködése [20].

JAGODIN és VERNICSENKO kísérleteire hivatkozással elhárul munkánk fölől az a kifogás is, hogy megállapításainkat izotópos módszerrel nem ellenőriztük. Úgy véljük, erre most már nincs is közvetlen szükség, miután régi tételünk perdöntő módon igazolódott.

Az endogén nitrátképzés jelensége élettani és egyensúlyi reakció tekintetében egyaránt értelmezhető. Felfoghatjuk mint a sejtanyagcsere méregtelenítő mechanizmusát, amely pl. az  $\text{NH}_4^+$ -ion túlzott peptizáló hatásának és a plazmaszerkezet idő előtti romlásának elejét veheti, vagy legalább fékezi. VINES és WEDDING is foglalkoztak az ammonia toxicitásával [19], ha nem is kifejezetten kolloidikai nézőpontból. Az egyensúlyi reakció fölől nézve önként kínálkozik az „elkerülhetetlen oxidáció” ténye. A földi környezet legáltalánosabb jellemzője, a légkör, az oxidációnak kedvez. Emiatt pl. a szén-dioxid redukciójához a fotoszintézisben 2850 kJ/mol energia szükséges. Hozzávető számítás szerint a nitrátredukció energiaigénye 950 kJ/mol, amit a növény anyagcseréje fedez. Ennek kimerülésekor az egyensúly az oxidáció felé tolódhat.

A valóság azonban nem ennyire egyszerű; pl. az  $\text{O}_2$  parciális nyomásának növelésével nem tudtuk belátható idő alatt még az intermediereket sem oxidált állapotba juttatni az  $\text{NH}_4^+$ -tól az  $\text{NO}_3^-$ -ig vezető láncolatban. Elméletünket azonban mindez nem cáfolja, mert a biológiai rendszerekben nem a direkt oxidáció, hanem a H-elvonás a szokásosabb út, melyhez megfelelő akceptorok szükségesek, illetve szerves katalizátorok, azaz enzimek. Így vetődött fel az a szokatlan következtetés, hogy esetleg a nitrit- és nitrátreduktáz fordított irányú (?) katalitikus működése gyanítható a kísérletileg immár bizonyított endogén nitrifikációban.

Igaz ugyan, hogy a nitrátreduktáz adaptív enzim; csak akkor jelentkezik a rendszerben, ha nitrát is jelen van [17], azonban a vele együttműködő nitritreduktáz konstitutív jellegű, tehát szinte mindig jelen van a sejtrészecskékhez kötött állapotban. A munkahipotézisként említett fordított működésnél némi nitrát keletkezése nincs

kizárva, és megindíthatja a nitrátreduktáz megjelenését; esetleg már a nitrit jelenléte is kiválthatja ezt. Természetesen megfelelő izoenzimekkel is számolhatunk, melyek segíthetik az egyensúly eltolódását az oxidált állapot felé, ha a nitrátredukcióhoz szükséges metabolikus energia kimerülőben van.

Az energetikai körülményekre tekintettel még olyan következtetést is meg lehetne kockáztatni, hogy egy rejtett turnover esete is fennáll a nitrátredukcióban, azaz egy része az anyagnak reverz módon szüntelenül a vissza-oxidálódás irányába törekszik. Ezt a tendenciát rendes körülmények közt nem engedi érvényesülni az intenzívebb redukciós folyamat, ami nélkül a fehérjeszintézis és eleven állapot nem maradhat fenn. Egészséges növényben a nitrát redukciója szükségképpen elfedi a reverz változást. Így válik érthetővé, hogy évtizedekig nem vettek tudomást az itt tárgyalt nitrogén-reoxidáció meglehetősen elterjedt, sőt elméletileg is megalapozott jelenségéről.

### Összefoglalás

Steril körülmények közt is bizonyítható az 1958-tól hirdetett megállapítás, hogy talajbaktériumok és külső felvétel nélkül is képződhet nitrát egyes magasabbrendű növényekben, az anyagszere tartalékainak kimerülésekor. Különösen olyan csíranövények (*Lycopersicum*, *Sinapis* stb.) mutatják jól az „endogén nitrifikáció” jelenségét, amelyeket 28—30 °C hőmérsékleten két-három hétig desztillált vizen neveltünk a teljes kiéhezésig. A magyarázat az aerobiózisban rejlik. A légkör mint oxidatív környezet a nitrátredukció megfordulását segítheti, ha a redukciós potenciál csökkenőben van. Dehidrogenáló enzimek közreműködése valószínű.

### Irodalom

- [1] BEEVERS, L.: Nitrogen metabolism in plants. Arnold. London. 1976.
- [2] BRETELER, H. & LUCZAK, W.: Utilization of nitrite and nitrate by dwarf bean. *Planta*. **156**. 226—232. 1982.
- [3] BURNS, R. C. & HARDY, R. W. F.: Nitrogen fixation in bacteria and higher plants. Springer Verlag. Berlin—Heidelberg—New York. 1975.
- [4] FARKAS G.: Növényi biokémia. Akadémiai Kiadó. Budapest. 1984.
- [5] FRENYÓ V.: Növényrészek oldható N, K, P tartalmának gyors meghatározása. *Agrokémia és Talajtan*. **7**. 401—402. 1958.
- [6] FRENYÓ, V.: Schnelle Untersuchungsmethode des anorganischen Stickstoff-, Kalium- und Phosphorgehaltes der Pflanzen. *Annales Univ. Scient. Budapest. Sectio Biol.* **3**. 189—194. 1960.
- [7] FRENYÓ, V.: Über die Veränderung des Gehaltes der Reispflanze an anorganischen NPK während ihrer Entwicklung. *Annales Univ. Scient. Budapest. Sectio Biol.* **4**. 83—97. 1961.
- [8] FRENYÓ, V.: Examination of plants with drop analytical methods. *Botanikai Közlem.* **53**. 109—116. 1966.
- [9] FRENYÓ, V.: The formation of nitrate in plant tissues. *Annales Univ. Scient. Budapest. Section Biol.* **8**. 77—85. 1966.
- [10] FRENYÓ V.: Nitrátképződés növényekben. *Magy. Biol. Társ. Botanikai Szakoszt. XI.* 14-i szakülésén. Előadás kísérleti bemutatókkal. 1983.

- [11] FRENÝÓ, V. & MIHÁLYFI, J. P.: Reoxydation des Stickstoffes in Sinapis-Keimpflanzen. Acta Botan. Acad. Scient. Hung. **16**. 33—36. 1970.
- [12] FUNKHOUSER, E. A. & GARAY, A. S.: Appearance of nitrate in soybean seedlings and *Chlorella* caused by nitrogen starvation. Plant and Cell Physiol. **22**. 1279—1286. 1981.
- [13] HORVÁTH S.: Mikrobiológiai praktikum. Tankönyvkiadó. Budapest. 1980.
- [14] JAGODIN, B. A. & VERNICSENKO, I. V.: Vozmoznosty okiszenija ammonijnovo azota v tkanjah do nitratov. Opüti sz  $^{15}\text{N}$ . Izvesztija Akad. Nauk. Szer. Biol. **2**. 266—272. 1984.
- [15] POSTGATE, J.: Biological nitrogen fixation. Merrow Publishing Co. England. 1972.
- [16] ROUTCHENKO, M. W. & DELMAS, J.: De la formation de nitrates dans des plantes supérieures dont l'alimentation azotée est exclusivement ammoniacale. C. R. Acad. Sci. Paris. **256**. 2910—2913. 1963.
- [17] SHEN, T. C.: Nitrate reductase of rice seedlings and its induction by organic nitro-compounds. Plant Physiol. **49**. 546—549. 1972.
- [18] SPILLER, H. et al.: Intracellular appearance of nitrite and nitrate in nitrogen-starved cells of *Ankistrodesmus braunii*. Planta. **129**. 175—181. 1976.
- [19] VINES, H. M. & WEDDING, R. T.: Some effects of ammonia on plant metabolism and a possible mechanism for ammonia toxicity. Plant Physiol. **35**. 820—825. 1960.
- [20] YAMAFUJI, K. & OSAJIMA, Y.: Dehydrogenation of ammonia to nitrate by enzymes isolated from green algae (*Chlorella* and *Scenedesmus*). Enzymol. Acta Biocatal. **26**. 75—86. 1963.

Érkezett: 1984. november 26.

## Nitrification Without Soil Bacteria?

V. FRENÝÓ

Institute of Plant Physiology, L. Eötvös University, Budapest (Hungary)

### Summary

During the past decades author has repeatedly disclosed and proved his findings, that nitrate may form in an endogenous way in some of the Phanerogam plants. This nitrate does not originate in the soil. The experiments have been conducted under aseptic conditions, with the definite exclusion of nitrifying bacteria. In this paper the results of experiments conducted *in vitro*, under strictly controlled conditions, are reported.

It has been found that the nitrate manifested in the cells of higher plants is not formed through the nitrifying mechanism of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. In this case the process evolves through a forced course, when, due to energy deficit, the redox potential changes in such a way that oxidation surpasses reduction. The atmosphere — as an oxidative environment — promotes nitrate reduction to some extent in an indirect way, through metabolic energy, because in the absence of nitrate reduction protein synthesis could not utilize nitrate-nitrogen. If, however, due to starvation or to some other reason the metabolism of the plant cannot provide enough energy for nitrate reduction, then the process may reverse, and nitrogen, which is already in a reduced state, may become reoxidized. This „reoxidation“ occurs, without any doubt, through enzyme activity, in other words, it is some sort of catalytic process. Author does not postulate the existence of an oxidizing enzymatic system which transfers atmospheric oxygen to nitrogen; in his opinion the phenomenon is caused probably by the activity of dehydrogenizing enzymes.

*Sinapis* and *Lycopersicum* seedlings are suitable test plants in the study of endogenous nitrate formation. The seedlings are kept in test tubes filled with distilled water till complete starvation sets in, which takes from 2 to 3 weeks at temperatures of 28—30 °C. At that time very



pronounced nitrate reaction can be detected in the hypocotyl, though previously no such process took place.

*Table 1.* Endogenous nitrate formation in 21-day-old *Sinapis* and *Lycopersicum* seedlings, in the percentage of occurrence. (28—30 °C; 5000 lux; at the end of the test period the seedlings were kept in the dark for 3 hours.) (1) Organs. a) cotyledons; b) hypocotyl; c) roots. (2) Percental occurrence of endogenous nitrate in 100 seedlings; (3) positive case; (4) negative case.

## Nitrifikation ohne Bodenbakterien?

V. FRENYÓ

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität „Eötvös Loránd“, Budapest (Ungarn)

### Zusammenfassung

Verfasser hat seit Jahrzehnten seine Feststellung bekanntgegeben und diese oftmals nachgewiesen, dass sich Nitrat in einigen Phanerogamen Pflanzen auch auf endogene Weise bilden kann, und stammt daher nicht aus dem Boden. Die unter sterilen Umständen durchgeführten Versuche haben auch die Anwesenheit von nitrifizierenden Mikroorganismen ausgeschlossen. Auch gegenwärtige Arbeit befasst sich mit *in vitro*, unter sehr strengen Vorbedingungen durchgeführten, diese Frage studierenden Versuchen.

Das in den Zellen der höheren Pflanzen vorhandene Nitrat entsteht aber nicht durch die nitrifizierende Tätigkeit von *Nitrosomonas* und *Nitrobacter*. In dem untersuchten Fall spielt sich der Vorgang zwangsweise ab, wenn sich infolge Energiedefizits das Redoxpotential so ändert, dass der Reduktion gegenüber die Oxydation in den Vordergrund tritt. Die Atmosphäre als oxydatives Medium wirkt auf die Nitratreduktion — ohne die die Proteinsynthese den dem Nitrat entstammenden Stickstoff nicht verwerten könnte — durch die metabolische Energie nur sehr indirekt ein. Wenn aber infolge Stickstoffmangels, oder aus irgendeinem anderen Grund der Pflanzenstoffwechsel nicht genügend Energie zum Ablauf der Nitratreduktion liefern kann, wird der ganze Vorgang umgekehrt, und der bereits reduzierte Stickstoff wieder oxydiert. Diese Reoxydation erfolgt zweifellos auf Einfluss von Enzymen, d. h. sie stellt einen katalytischen Vorgang dar. Verfasser nimmt nicht die Existenz eines Enzymsystems an, dass Sauerstoff aus der Atmosphäre auf den Stickstoff übertragen kann, eher ist eine Einwirkung von dehydrogenisierenden Enzymen wahrscheinlich.

Sehr geeignet für die Untersuchung von endogener Nitratbildung sind die Keimpflanzen von *Lycopersicum* und *Sinapis*, die in Reagenzgläsern in destilliertem Wasser bis zum völligen Nährstoffmangel gezogen werden. Dieser tritt bei 28—30 °C nach 2—3 Wochen ein. Dann kann zumeist im Hypokotyl eine sehr lebhaft Nitratreaktion nachgewiesen werden, von der vorher keine Spur zu sehen war.

*Tab. 1.* Erscheinen von endogenem Nitrat bei 21 Tage alten *Sinapis* und *Lycopersicum* Keimpflanzen, in Prozenten des Vorkommens. (28—30 °C; 5000 Lux; Verdunkelung in den letzten 3 Stunden.) (1) Organe. a) Keimblätter; b) Hypokotyl; c) Keimwurzel. (2) Häufigkeit von  $\text{NO}_3^-$  in 100 Pflanzen, %; (3) positiver Fall; (4) negativer Fall.

## Нитрификация без почвенных бактерий?

В. ФРЕНЬО

Кафедра Физиологии Растений Университета им. Л. Этвэша, Будапешт (Венгрия)

### Резюме

Автор в продолжении нескольких десятилетий объявлял результаты и доказывал тот факт, что у некоторых фанерогамных растениях нитрат может образоваться и эндогенным путем, т. е. он может происходить и не из почвы. Наличие нитрифицирующих бактерий в стерильных условиях опытов исключалось. Настоящая работа изучает этот вопрос *ин витро*.

Нитрат, находящийся в клетках высших растений, может происходить и не за счет нитрифицирующих процессов, вызванных *Nitrosomonas* и *Nitrobacter*. Здесь процесс идет принудительно в том случае, если при дефиците энергии редокс потенциал изменяется таким образом, что вместо редукции на передний план выступает процесс окисляции. Воздушная среда, как окислительная среда, только косвенно, посредством метаболической энергии способствует нитрификации, без которой синтез белка не может использовать азот нитрата. Если в процессе голодания или по каким либо другим причинам обмен веществ в растении не дает достаточно энергии для прохождения редукции нитратов, процесс может повернуться в обратную сторону, не редуцированный азот может снова окислиться. Эта «реоксидация» проходит ферментативным путем, т. е. является разновидностью каталитического процесса. Имеется в виду не окислительная ферментативная система, которая переносит кислород воздуха на азот, а скорее здесь действуют дегидрогенирующие ферменты.

Для изучения эндогенного образования нитратов весьма пригодны проростки *Sinapis* или *Lycopersicum*, которые выращивают в дистиллированной воде до полного голодания. Это при температуре 28—30 °C наступает через две-три недели. В это время в гипокотиле можно обнаружить довольно заметную реакцию нитрификации, которой раньше не было и следа.

Табл. 1. Появление эндогенного нитрата в 21-дневных проростках *Sinapis* и *Lycopersicum*, его встречаемость, %. (28—30 °C; 5000 люксов; затемнение в последние три часа). (1) Органы. а) Семенные листки; б) Гипокотил; в) Корень проростка. (2) Частота встречаемости  $\text{NO}_3^-$  на 100 растений. (3) Положительный случай. (4) Отрицательный случай.